

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ФИКСАЦИИ НА СТРОЕНИЕ ВНЕШНИХ ПОКРЫТИЙ У СПОР МИКРОСПОРИДИЙ (MICROSPORIDIA)

В. Н. Воронин

На примере двух видов микроспоридий из низших ракообразных описывается ультраструктура внешних покрытий у спор микроспоридий без и при воздействии на них воды. Обсуждается функциональная роль отмеченных изменений и их значение для систематики этих паразитических простейших.

Микроспоридии — внутриклеточные паразитические простейшие, образующие в конце жизненного цикла огромное число спор. Последние, несмотря на свои микроскопические размеры (в среднем 2—5 мкм), имеют чрезвычайно сложное строение (Исси, 1986; Larsson, 1986а). В ходе наших исследований по изучению ультраструктуры микроспоридий низших ракообразных были выявлены серьезные различия в строении экзоспоры (наружного слоя оболочки споры), а также у ряда видов отмечено наличие соединенных с экзоспорой дополнительных внешних образований, экстраспоровых покрытий (*extrasporal coat*) по терминологии, используемой Ларссоном (Larsson, 1986а). У двух видов микроспоридий особенности строения экзоспоры в сочетании с экстраспоровым покрытием оказались настолько своеобразными, что послужили основанием для описания на их основе двух новых родов: *Holobispora* и *Lanatospora* (Воронин, 1986). В ходе дальнейших исследований было установлено, что у представителей этих родов строение экстраспорового покрытия меняется в зависимости от условий фиксации материала, т. е. не представляет собой стабильный признак, как это считалось до сих пор.

Материал и методика. Подготовка материала для изучения ультраструктуры микроспоридий низших ракообразных состояла из следующих этапов: подбора объектов для изучения, фиксации, послефиксационной обработки с получением ультратонких срезов и их просмотра в просвечивающем режиме электронного микроскопа JEM-100 CX. Операции на всех этапах, за исключением первого, проводили по общепринятым методикам. Фиксацию осуществляли 2—

2.5%-ным раствором глютаральдегида на какодилатном или фосфатном буфере в течение 2 ч с последующей промывкой в буфере и дофиксацией в 1.5—2%-ном растворе четырехокиси осмия в течение 2 ч. Зафиксированный материал доводили до 70 % этанола, в котором его хранили несколько суток. Весь этот процесс осуществляли при температуре 4—6°. В лабораторных условиях материал окончательно обезвоживали в серии восходящих спиртов и ацетоне, заключали в эпон-аралитовые блоки. Из последних готовили ультратонкие срезы, которые контрастировали в растворах уринацетата и цитрата свинца.

На первом этапе работы объекты для фиксации отбирались различным способом. Так, если при разборе живой пробы планктона находили несколько экземпляров раков одного вида со сходными внешними признаками поражения, то часть из них использовали для изготовления мазков и водных препаратов по ранее опубликованным методикам (Воронин, Исси, 1974), а оставшихся живых особей целиком, не повреждая покровов, фиксировали для электронной микроскопии. В случае единичных находок зараженных раков их исследовали комплексно, а именно: тело живого рака, находящегося в капле воды на предметном стекле, осторожно под контролем стереомикроскопа протыкали острой препаровальной иглой, после чего переносили в фиксатор, а вытекшую из его ранки суспензию спор просматривали под микроскопом для определения вида микроспоридий и изготовления мазков. Таким образом, в нашем распоряжении оказался материал, где в первом случае споры микроспоридий, заключенные в ткани хозяина, не контактировали с водой, а во втором — в районе ранки оказались под ее воздействием.

Результаты и обсуждение. В ранних описаниях ультраструктуры стадий спорогонии микроспоридии *Holobispora thermocyclospis* (Воронин, 1986) было отмечено, что типичной панспоробластической оболочки (или, согласно новой терминологии, оболочки спорофорной вакуоли), окружающей соединенные попарно споры, обнаружить не удалось. Действительно, в случае фиксации зараженных циклов без нарушения их покровов вокруг соединенных попарно спор присутствует масса гранул электронноплотного материала, обычно заполняющих полость спорофорной вакуоли, а примыкающий к стенке споры электронноплотный слой имеет сходство с экзоспорой, но не с оболочкой спорофорной вакуоли (рис. 1, а; см. вкл.). Совершенно иная картина наблюдается при фиксации с повреждением наружных покровов раков. Плотное соединение спор нарушается, они расходятся, а примыкающий к их поверхности электронноплотный слой либо частично (рис. 1, б), либо полностью отходит (рис. 1, в). При этом формируется полость, напоминающая спорофорную вакуоль. В ней имеются немногочисленные тонкие электронноплотные нити (рис. 1, б) или гранулы (рис. 1, в). С увеличением размера полости происходит истончение ее оболочки (рис. 1, б, в).

Сходное преобразование экстраспорового покрытия в типичную спорофорную вакуоль отмечено и для микроспоридии *Lanatospora bosmina*. Экзоспора этого вида представлена двумя электронноплотными слоями, разделенными электронно-прозрачным слоем, а экстраспоровое покрытие — толстым войлоко-подобным образованием, состоящим из большого числа электронноплотных филаментов и гранул (рис. 2, а; см. вкл.). Именно это экстраспоровое покрытие трансформируется в спорофорную вакуоль, имеющую тонкую, но прочную оболочку (рис. 2, б). От сохраняющейся неизменной экзоспоры в полость образовавшейся вакуоли отходят тонкие, электронноплотные нити (рис. 2, б).

По нашему мнению, как у вида *Holobispora thermocyclospis*, так и у *Lanatospora bosmina* описанные изменения экстраспоровых покрытий, приводящие к формированию типичной спорофорной вакуоли, происходят только в результате воздействия воды. Очевидно, что описанные у микроспоридии водных беспозвоночных отростки у спор или окружающие их оболочки играют важную функциональную роль, придавая спорам плавучесть, и тем самым способствуют их распространению и повышают шанс заражения паразитом нового хозяина. Механизм, обеспечивающий резкое увеличение объема околоспоровых структур, исходно очень компактных (что обусловлено ограниченными размерами клетки хозяина) несомненно должен рассматриваться как весьма совершенная эволюционно прогressive адаптация.

Наши наблюдения показали, что условия фиксации определяют характер получаемой морфологической картины (экстраспоральное покрытие или спорофорная вакуоль). Это, в свою очередь, приводит к соответствующей неадекватной таксономической оценке. Анализ литературных данных позволяет предположить, что аналогичные изменения, вероятно, имеют место и у микроспоридии *Episeptum inversum* с хорошо развитой камерной частью экзоспоры (Larsson, 1986b). Не менее

интересно проследить и за воздействием воды на микроспоридий двусporовых родов *Telomyxa* и *Berwaldia*, у которых оболочка спорофорной вакуоли тесно прилегает к спорам или к гранулярному материалу, окружающему споры.

Таким образом, показано, что при изучении микроспоридий водных беспозвоночных необходимо введение дополнительного методического приема, заключающегося в обработке споровых масс водой для выявления возможной трансформации экзоспоральных структур.

Список литературы

- Воронин В. Н. Микроспоридии ракообразных // Протозоология. 1986. Вып. № 10. С. 137—166.
Воронин В. И., Исси И. В. О методиках работы с микроспоридиями // Паразитология. 1974. Т. 8, вып. 3. С. 272—273.
Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Протозоология. 1986. Вып. 10. С. 6—136.
Larsson R. Ultrastructure, function and classification of microsporidia // Progr. Protistol. 1986a. Vol. 1. P. 325—390.
Larsson R. Ultracytology of tetrasporoblastic microsporidium of the caddisfly *Holocentropus picicornis* (Trichoptera, Polycentropodidae), with description of *Episeptum inversum* gen. et sp. nov. (Microspora, Gurleyidae) // Arch. Protistenkd. 1986b. Vol. 131, N 3. P. 257—279.

ГосНИОРХ, Ленинград

Поступила 13.03.1989

THE EFFECT OF METHODS OF THE HOST PREPARATION ON THE MICROSPORIDIAN EXTRASPORAL COAT (MICROSPORIDIA)

V. N. Voronin

SUMMARY

The ultrastructural transformation of the extrasporal coat of the microsporidia *Holobispora thermocyclopis* and *Lanatospora bosmina* was revealed. Under the influence of water the cavity between the extrasporal coat and the spore wall is formed and seems like the sporophorous vesicle. The biological role of this transformation of extrasporal coat is discussed.

Вклейка к ст. В. Н. Воронина

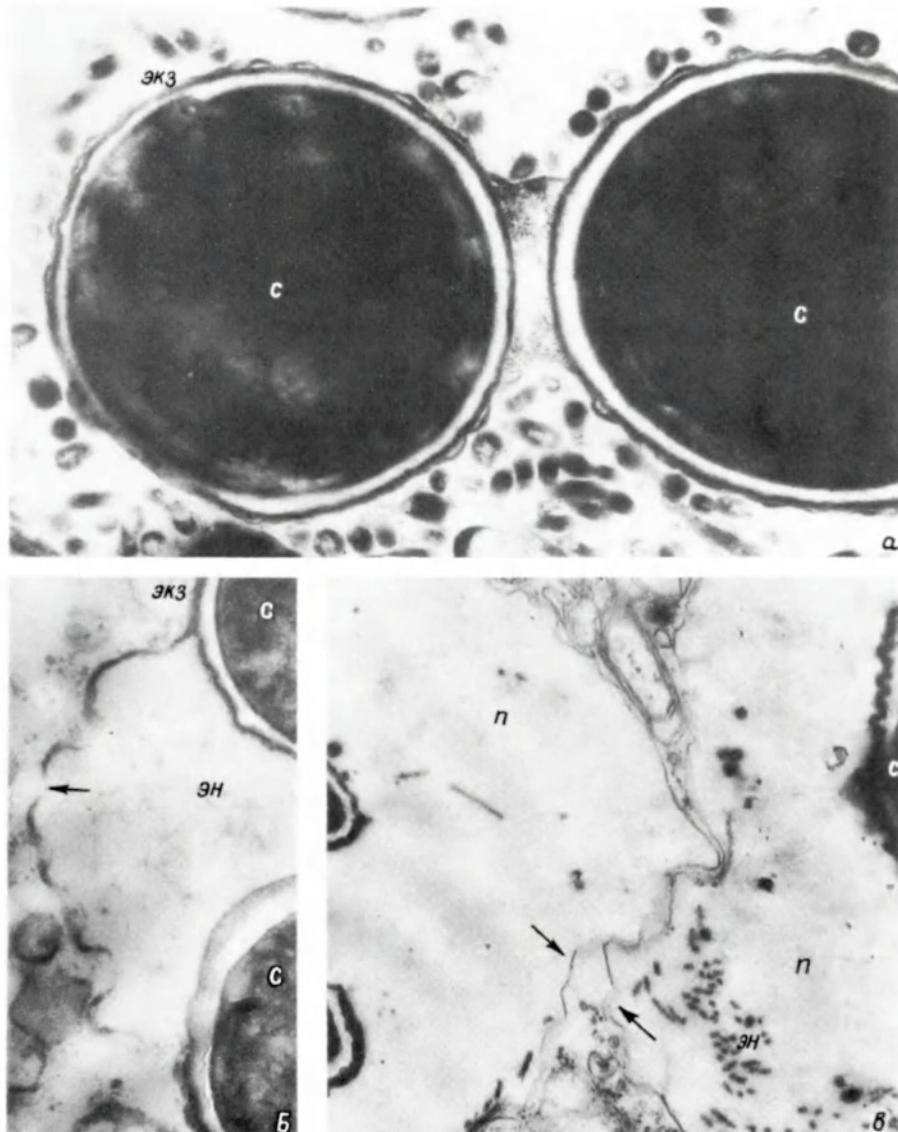


Рис. 1. Изменение ультраструктуры экстраспорового покрытия у микроспоридии *Holobispora thermocyclopis* Voronin, 1986.

а — срез через сдвоенные споры при отсутствии контакта с водой. Экстраспоровое покрытие соединено со стенкой спор (ув. 28 000); б — частичное отслоение экстраспорового покрытия с образованием полости, заполненной немногочисленными тонкими электронноплотными нитями (ув. 32 000); в — полное отслоение экстраспорового покрытия с образованием значительной полости, сходной со спорофорной вакуолью (ув. 23 000); с — спора; ЭКЗ — экзоспора; п — полость; ЭН — электронноплотные нити; стрелка — экстраспоровое покрытие.

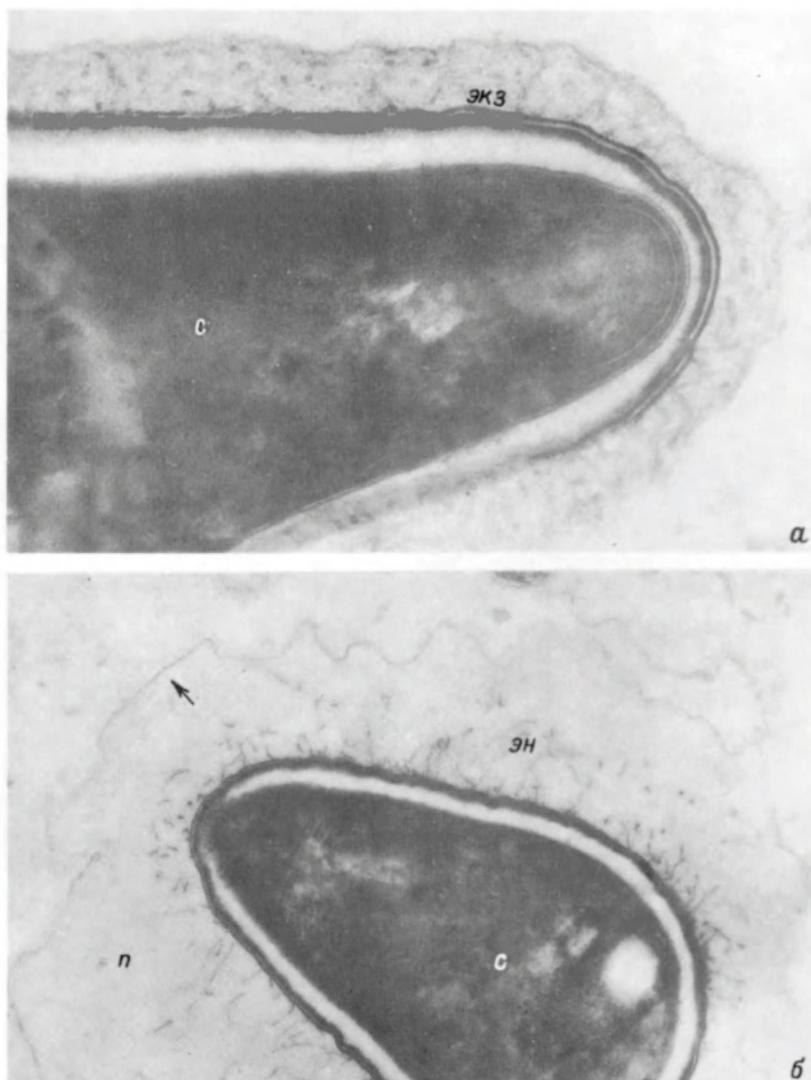


Рис. 2. Изменение ультраструктуры экстраспорового покрытия у микроспоридии *Lanatospora bosminaiae* Voronin, 1986.

a — продольный срез переднего конца споры. Войлокоподобное экстраспоровое покрытие неразрывно соединено с двуслойной экзоспорой (ув. 60 000); *б* — полная трансформация экстраспорового покрытия с образованием тонкостенной оболочки и полости, заполненной электронноплотными нитями, соединенными с наружным слоем экзоспоры (ув. 32 000). Обозначения те же, что и на рис. 1.